

PCT / BR 2004 / 000237



REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
Ministério do Desenvolvimento, da Indústria e Comércio Exterior.
Instituto Nacional da Propriedade Industrial
Diretoria de Patentes

CÓPIA OFICIAL

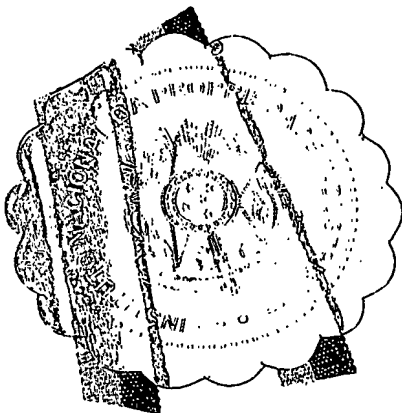
PARA EFEITO DE REIVINDICAÇÃO DE PRIORIDADE

O documento anexo é a cópia fiel de um
Pedido de Patente de Invenção
Regularmente depositado no Instituto
Nacional da Propriedade Industrial, sob
Número PI 03062309 de 28/11/2003.

Rio de Janeiro, 18 de Janeiro de 2005.

Murilo da Silva
Murilo da Silva

Técnico 3 III Mat.449188
DIRPA/SAAPAT/NUCAD



BEST AVAILABLE COPY

INPI-DEINPI/SP

28 NOV 16 4 1 005953

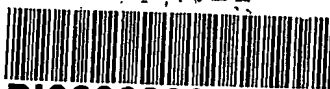
Protocolo

Número (21)

DEPÓSITO

DEPÓSITO

Pedido de Patente ou de
Certificado de Adição



PI0306230-9

Espaço reservado para etiqueta (número e data de depósito)

depósito / /

Ao Instituto Nacional da Propriedade Industrial:

O requerente solicita a concessão de uma patente na natureza e nas condições abaixo indicadas:

1. Depositante (71):

1.1 Nome: PHB INDUSTRIAL S/A

1.2 Qualificação: Empresa Brasileira

1.3 CGC/CPF: 03.698.762/0001-00

1.4 Endereço completo: Usina da Pedra, s/nº - Bairro Zona Rural
Serrana - SP

1.5 Telefone: ()

FAX: ()

☐ continua em folha anexa

2. Natureza:

☒ 2.1 Invenção ☐ 2.1.1. Certificado de Adição ☐ 2.2 Modelo de Utilidade

Escreva, obrigatoriamente e por extenso, a Natureza desejada: **INVENÇÃO**

3. Título da Invenção, do Modelo de Utilidade ou do Certificado de Adição (54):
"PROCESSO PARA RECUPERAÇÃO DE POLIHIDROXIALCANOATOS (PHAs) DE
BIOMASSA CELULAR"

☐ continua em folha anexa

4. Pedido de Divisão do pedido nº _____, de ____/____/____.

5. Prioridade Interna - O depositante reivindica a seguinte prioridade:
Nº de depósito _____ Data de Depósito ____/____/____ (66)

6. Prioridade - o depositante reivindica a(s) seguinte(s) prioridade(s):

| País ou organização de origem | Número do depósito | Data do depósito |
|-------------------------------|--------------------|------------------|
| | | |
| | | |
| | | |

☐ continua em folha anexa

() Assinale aqui se o(s) mesmo(s) requer(em) a não divulgação de seu(s) nome(s)
(art. 6º § 4º da LPI e item 1.1 do Ato Normativo nº 127/97)

7.1 Nome: PAULO EDUARDO MANTELATTO

7.2 Qualificação: brasileiro, engenheiro químico, CPF 044.108.658-62

7.3 Endereço: Rua São João, 1.344 - apto. 12
Piracicaba - SP

7.4 CEP: 13486-890 7.5 Telefone ()

☒ continua em folha anexa

8. Declaração na forma do item 3.2 do Ato Normativo nº 127/97:

☐ em anexo

9. Declaração de divulgação anterior não prejudicial (Período de graça):
(art. 12 da LPI e item 2 do Ato Normativo nº 127/97):

☐ em anexo

10. Procurador (74):

10.1 Nome e CPF/CGC: Antonio Mauricio Pedras Arnaud
Brasileiro, Casado, advogado, OAB/SP nº180.415

10.2 Endereço: Rua José Bonifácio, 93 - 7º, 8º e 9º andares - Centro
São Paulo - SP

10.3 CEP: 01003-901

10.4 Telefone (011) 3291-2444

11. Documentos anexados (assinale e indique também o número de folhas):
(Deverá ser indicado o nº total de somente uma das vias de cada documento)

| | | | | | |
|---|-----------------------------------|--------|---|---------------------------|---------|
| X | 11.1 Guia de recolhimento | 1 fls. | X | 11.5 Relatório descritivo | 35 fls. |
| X | 11.2 Procuração | 1 fls. | X | 11.6 Reivindicações | 7 fls. |
| | 11.3 Documentos de prioridade | fls. | X | 11.7 Desenhos | 1 fls. |
| | 11.4 Doc. de contrato de Trabalho | fls. | X | 11.8 Resumo | 1 fls. |
| | 11.9 Outros (especificar): | | | | fls. |
| X | 11.10 Total de folhas anexadas: | | | | 46 fls; |

12. Declaro, sob penas da Lei, que todas as informações acima prestadas são completas e verdadeiras

São Paulo, 28 de novembro de 2003


Antonio M. P. Arnaud

Local e Data

Assinatura e Carimbo

ÁLVARO MINTO DUZZI

brasileiro, engenheiro químico, CPF 132.518.148-00

residente à Rua Vicente de Paula Lima, 382 - Centro - Serrana - SP

TETUHIKO SATO

brasileiro, engenheiro químico, CPF 037.979.458-68

residente à Rua Prof. Alexandre Correa, 321 - apto. 51 - Morumbi - São Paulo - SP

NAZARENO ANTÔNIO SERTÓRI DURÃO

brasileiro, engenheiro mecânico. CPF 047.188.628-92

residente à Rua Floriano Peixoto, 615 - apto. 01 - Centro - Brodowski - SP

ROBERTO VIANNA NONATO

brasileiro, químico, CPF 064.841.948-74

residente à Rua Coriolano, 982 - apto. 122 - São Paulo - SP

CARLO ROCCHICCIOLI

brasileiro, engenheiro químico, CPF 001.003.748-91

residente à Alameda Ministro Rocha Azevedo, 545 - apto. 81 - São Paulo - SP

SÔNIA MARIA KESSERLINGH

brasileira, engenheira química, CPF 128.587.988-00

residente à Rua Matheus Benelli, 494 - Jd. Recreio dos Bandeirantes - Sertãozinho - SP

CARLOS EDUARDO VAZ ROSSELL

uruguaio, engenheiro químico, CPF 721.021.608-15

residente à Rua Catarina Signori Vicentin, 667 - Barão Geraldo - Campinas - SP

"PROCESSO PARA RECUPERAÇÃO DE POLIHIDROXIALCANOATOS (PHAs) DE BIOMASSA CELULAR"

Campo da Invenção

A invenção objeto desta patente está relacionada a um processo já comprovado industrialmente, para extração e recuperação de polihidroxicarboxilatos (PHAs), a partir de biomassa úmida de bactérias, utilizando solventes não halogenados e não agressivos ao meio ambiente, permitindo obtenção de polihidroxicarboxilatos (PHAs) de elevada pureza e peso molecular, utilizando fontes de matérias-primas e energia renováveis, geralmente oriundas da indústria sucro-alcooleira da cana-de-açúcar.

Antecedentes da invenção

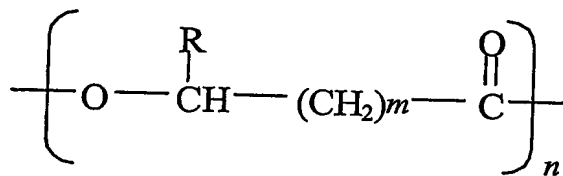
É atualmente conhecida na indústria mundial, a necessidade de produzir materiais biodegradáveis e biocompatíveis utilizando matérias-primas e fontes de energia renováveis através de processos não agressivos ao meio ambiente.

Na sociedade moderna, embora a utilização de materiais plásticos em larga escala tenha representado um marco na história no desenvolvimento tecnológico, a utilização crescente destes materiais vem desencadeando uma diversidade de problemas ambientais, cada vez mais sérios. No caso da indústria de resinas plásticas de origem petroquímica, os volumes anuais gerados beiram a casa dos 200 milhões de toneladas. Estes materiais, muito resistentes à degradação natural, acumulam-se rapidamente nas áreas de descarte, principalmente ao redor dos grandes centros urbanos. Em vista destes problemas, o desenvolvimento de resinas plásticas biodegradáveis vem recebendo atenção mundial, principalmente aquelas produzidas por meio de tecnologia limpa, a partir de fontes renováveis. Diante da relevância destes fatos, o potencial de mercado para utilização destes novos materiais é enorme. As aplicações destes biopolímeros biodegradáveis, com maiores chances de serem bem sucedidas no mercado, vão desde as que envolvem o uso

como materiais descartáveis, como embalagens, frascos de cosméticos e agrotóxicos, até aplicações médicas e farmacêuticas.

Uma família importante dos biopolímeros biodegradáveis é a dos Polihidroxiálcanoatos (PHAs), que são poliésteres naturalmente sintetizados por um grande número de seres vivos. Com mais de 170 representantes descritos na literatura, o interesse comercial pelos PHAs está diretamente relacionado não apenas à biodegradabilidade, mas também às suas propriedades termomecânicas e seus custos de produção. Desta forma, apenas alguns PHAs têm encontrado aplicação industrial, sendo os mais representativos o PHB (poli-3-hidroxibutirato), PHB-V (poli(hidroxibutirato-co-hidroxivalerato)), P4HB (poli-4-hidroxibutirato), P3HB4HB (poli(3-hidroxibutirato-co-4-hidroxibutirato)) e alguns PHAmcl (polihidroxiálcanoatos de cadeia média), sendo o representante típico desta última família o PHHx (polihidroxihexanoato).

A estrutura química dos PHAs pode ser descrita como uma cadeia polimérica, formada por repetições da seguinte unidade:



onde R é um grupo alquila ou alcenila de comprimento variável e m e n são números inteiros, sendo que, nos polímeros mencionados acima, R e m assumem os seguintes valores:

PHB: R=CH₃, m=1

PHB-V: R=CH₃ ou CH₃-CH₂-, m=1

P4HB: R=H, m=2

P3HB-4HB: R=H ou CH₃, m=1 ou 2

PHHx: $R=CH_3-CH_2-CH_2-$, $m=1$

A maioria dos PHAs pode ser processada em equipamentos de extrusão e injeção convencionais, não necessitando de modificações significativas para uma boa processabilidade. É possível também processar estes polímeros em sistemas de "cast" e "coating film", para aplicações como materiais de embalagem para indústria alimentícia.

Em função do grau de desenvolvimento destes polímeros, é possível produzir embalagens para produtos de higiene pessoal de rápido descarte e baixa gramatura. Também, podem-se vislumbrar aplicações em frascos e embalagens para agrotóxicos, óleo para motores, descartáveis infantis, dentre outras. Ainda, onde a propriedade intrínseca de biodegradabilidade for requerida, os PHAs têm aplicação baseada em aspectos técnico-comerciais bem definidos, tais como: sacolas de compostagem, pinos de golfe, artigos de pesca e outros que estão diretamente ligados ao manuseio de materiais plásticos em campo aberto.

Na agroindústria, PHAs podem ser aplicados em vasos de plantas, tubetes para reflorestamento, filmes para estufagem e cobertura e, principalmente, em sistema de "liberação controlada" de nutrientes, fertilizantes, herbicidas e inseticidas.

Para aplicações biomédicas, os PHAs podem ser utilizados em microencapsulamento para liberação controlada de fármacos, suturas médicas e pinos de fixação para fraturas ósseas, em função de sua total biocompatibilidade e resposta muito suave do organismo receptor quanto à presença do corpo estranho. Ainda, com uma taxa de biodegradação *in vivo* muito lenta, mas contínua e completa, os PHAs apresentam ótimo potencial de aplicação como estrutura básica para próteses reabsorvíveis.

O grande desenvolvimento das ciências naturais nas duas últimas décadas, particularmente da biotecnologia, tem

permitido, o uso dos mais diferentes organismos, naturais ou geneticamente modificados, na produção comercial de PHAs. Particularmente relevante para a presente invenção é o uso de determinadas linhagens de bactérias, capazes de produzir e acumular em seu interior quantidades expressivas destes polímeros. Cultivadas em condições específicas, que permitem alcançar alta densidade celular, elevado teor de polímero intracelular e rendimentos compatíveis com o processo industrial, estas linhagens bacterianas podem utilizar diferentes matérias-primas renováveis, como açúcar de cana, melaço ou extratos celulósicos hidrolisados.

Embora tenham sido feitas tentativas de aplicação das células bacterianas *in natura* (sem a utilização de agentes solubilizadores de PHA), como material moldável, conforme descreve a patente US-3107172, as aplicações comerciais de PHAs, na grande maioria dos casos, requerem que sua pureza seja suficientemente elevada para atingir as propriedades plásticas desejadas. Atingir-se os níveis de pureza adequados ao processamento do biopolímero, em especial para os PHAs, normalmente implica em etapas em que a utilização de solventes para extração e recuperação do PHA da biomassa residual é indispensável.

Na patente EPA-01455233 A2 são descritas várias possibilidades para proceder a digestão de uma suspensão aquosa de células contendo PHA, utilizando-se enzimas e ou agentes surfactantes para solubilizar o material celular não PHA. Esta patente menciona como possíveis restrições aos processos que utilizam solvente o fato dos mesmos requererem grandes quantidades de solventes e daí possuírem elevados custos de produção. No entanto, menciona que a etapa solvente não é eliminada, se um produto de elevada pureza for o desejado. Além do mais, embora as enzimas utilizadas neste processo sejam adicionadas em quantidades relativamente baixas (1% em relação à matéria seca de células) estas possuem um custo bastante elevado, e não podem ser recuperadas no

processo, contrariamente ao que ocorre quando se utiliza um solvente. Também, alta diluição do material celular é requerida, o que leva a um grande volume de efluentes gerado no processo.

5 Os processos de extração comumente propostos consistem, basicamente, em expor a biomassa celular, contendo o biopolímero, seca ou úmida, em contato vigoroso com um solvente que o solubiliza, seguindo-se de uma etapa onde o resíduo celular é separado. A solução contendo o
10 biopolímero recebe, então, a adição de um agente insolubilizante, que induz sua precipitação no solvente (ver por exemplo a patente brasileira PI 9103116-8, depositada em 16/07/91 e publicada em 24/02/93).

Nos processos de extração por solventes orgânicos,
15 frequentemente citados na literatura para extração e recuperação de PHA de biomassa de bactérias, os solventes utilizados são hidrocarbonetos parcialmente halogenados, tais como o clorofórmio (patente US-3275610), cloreto de metileno/etanol (US-3044942), cloroetanos e cloropropanos
20 com ponto de ebulição na faixa de 65 a 170°C, 1,2-dicloroetano e 1,2,3-tricloropropano (patentes EP-0014490 B 1 e EP 2446859).

Outros compostos, igualmente halogenados, como diclorometano, dicloroetano e dicloropropano são citados
25 nas patentes americanas US-4.562.245 (1985), US-4.310.684 (1982), US-4.705.604 (1987) e a patente européia 036.699 (1981) e alemã 239.609 (1986).

Os processos de extração e purificação de biopolímero de biomassa, que utilizam solventes halogenados, nos dias de
30 hoje são totalmente proibitivos, à medida que são altamente agressivos ao meio ambiente e à saúde humana. Um solvente, portanto, para ser candidato a ser utilizado como um potencial extrator do biopolímero de biomassa celular, deve atender, primeiramente, a condição de não
35 ser agressivo ao meio ambiente.

Nesta direção, a patente brasileira, PI 9302312-0 (depositada em 1993 e pedido concedido em 30/04/2002)

apresenta um processo de extração de biopolímero de biomassa bacteriana, que utiliza como solventes álcoois de cadeia superior a 3 carbonos ou os acetatos destes derivados. Esta patente dá preferência ao álcool isoamílico (3-metil-1-butanol), ao acetato de amila (ou o éster amil acético) e ao óleo fúsel, uma mistura de álcoois superiores obtida como subproduto da fermentação alcoólica e que tem por principal componente o álcool isoamílico. Esta patente se caracteriza, também, por utilizar um único solvente como extrator e purificador, não requerendo a utilização de um agente insolubilizante ou contra solvente e ou não solvente marginal. A precipitação do soluto (biopolímero) da solução de PHA é feita através do resfriamento da solução.

A patente americana US 6.043.063 (depositada em 14/04/1998 e pedido concedido em 28/03/2000), US 6.087.471 (depositada em 14/04/1998 e concedida em 11/06/2000) e o pedido de patente internacional WO-98/46783 (depositado em 15/04/1997) fazem menção a uma extensa lista de solventes não halogenados que poderiam ser potencialmente utilizados como solventes para extração de biopolímero de biomassa, mas que possuem em muito deles características como difícil manipulação industrial, toxicidade, além de elevado custo. Da extensa lista mencionada, que inclui também aqueles solventes citados na patente brasileira PI 9302312-0, há um número restrito de solventes com real potencial para utilização industrial na extração de biopolímero de biomassa vegetal ou de bactérias, quer por questões inerentes à incompatibilidade com biopolímero, quer pela toxicidade, explosividade, e até mesmo elevados custos. Também, a patente PI 96102256, depositada no Brasil em 16/08/1996 e publicada em 06/07/1999, é ainda menos seletiva, pois inclui até mesmo compostos bastante nocivos à saúde humana, além de óleos minerais e vegetais, gás carbônico (tecnologia de extração super crítica, de elevado custo) entre outros, como prováveis solventes candidatos a

extrair biopolímero de biomassa vegetal e de bactérias. Ao mesmo tempo, esta patente contemporiza a necessidade de evitar solventes potencialmente prejudiciais à saúde e ao meio ambiente.

5 Por serem os biopolímeros termosensíveis, isto é que, ao serem submetidos a temperaturas acima de um determinado valor se degradam irreversivelmente, perdendo peso molecular, o que poderá afetar definitivamente as propriedades que os caracterizam como termoplásticos, é
10 fundamental ter em mente que a lista de solventes com potencial de serem utilizados industrialmente torna-se ainda mais restrita. Dependendo do solvente elegido para promover a extração do biopolímero, este terá potencial de utilização industrial muito aumentado se for associado
15 a um processo adequado, que possibilite a extração do biopolímero sem promover alterações significativas em seu peso molecular. Acentuadamente para os solventes que necessitam ser aquecidos acima de 70°C para solubilizar o biopolímero, quanto maior o tempo em que o mesmo ficar
20 exposto a esta temperatura durante o processamento, maior será a degradação sofrida, fato que poderá comprometer irremediavelmente suas propriedades como termoplástico. Quanto menos alteração sofrer o PHA durante o processo de extração, tanto mais ampla será a gama de suas aplicações
25 comerciais possíveis.

Conforme referenda a literatura, a cinética de degradação do biopolímero, especialmente PHA, obedece a uma reação de ordem zero (ver por exemplo tese de mestrado: Berger, E., 'Elaboration des techniques de separation pour
30 des biopolymeres d'origine bacterienne: les acides poly- β -hydroxyalcanoiques', Departement de Genie Chimique-Ecole Polytechnique-Universite de Montreal, Canadá, 1990, páginas 72 a 75). denotando-se a taxa de degradação de seu peso molecular com o tempo exposto a uma temperatura T como
35 dMW/dt , a equação que define esta degradação é:

$$(d MW / dt)_T = k \quad (1)$$

onde:

k: é uma constante para um dado solvente a uma dada temperatura, T.

assim, se a equação (1) for integrada para um intervalo de tempo 0 a t, tem-se:

$$5 \quad \quad \quad MW_T = k.t + MW_0 \quad (2)$$

onde:

MW_T : é o peso molecular do biopolímero depois de decorrido o tempo de extração, t, para uma dada temperatura T; num solvente definido S;

10 MW_0 : é o peso molecular do biopolímero contido na biomassa, no tempo t=0, antes de ser submetido à extração;

k: é uma constante de proporcionalidade, para uma dada temperatura T e solvente S.

15 A título de exemplo, 20 g de biomassa de *Alcaligenes eutrophus* seca, contendo 70% de PHB, em base seca, são misturadas a 1500g de álcool isoamílico (grau técnico) a 110°C, submetendo-se a mistura a diferentes tempos de extração e filtração para remoção de partículas

20 insolúveis de biomassa. A solução de PHB obtida, é então resfriada rapidamente até 30°C para garantir a precipitação do PHB, que é em seguida filtrado e seco em corrente de ar a temperatura ambiente até a completa exaustão do solvente. Submetendo-se em seguida o PHB a

25 avaliação de peso molecular pela técnica de GPC ('Gel Permeation Chromatography': Cromatografia de Permeação em Gel) resulta, após ajuste matemático por regressão linear, na seguinte equação de degradação:

$$MW_T = - 9753,81. t + 1.000.000, \quad R^2 = 0,98 \quad (3)$$

30 onde:

MW_T : é o peso molecular do polihidroxibutirato após a extração em álcool isoamílico a 110°C, em Daltons;

t: é o tempo, em minutos, de exposição do polihidroxibutirato a temperatura de extração de 110°C em

35 álcool isoamílico;

R: é o coeficiente de correlação dos pontos experimentais com a equação de ajuste.

Assim, da equação (3), tem-se que o polihidroxibutirato, contendo originalmente um peso molecular de 1.000.0000 Da, e submetido a uma extração em álcool isoamílico a 110°C, daria, para um tempo de 5 minutos, um peso molecular de 951.230 Da, para 15 minutos de exposição 853.692Da, para 30 minutos de exposição 707.410 Da, para 60 minutos 414.771 Da. e 90 minutos 122.230 Da.

Considerando-se que, além da extração, outras operações como evaporação do solvente e secagem são necessárias à obtenção de um produto puro com boas propriedades mecânicas, e que estas operações muitas vezes expõem o biopolímero a situações críticas para o material, não é difícil de imaginar as dificuldades inerentes ao processamento deste tipo de material. Além do solvente, deve se ter um processo adequado a não degradação térmica do produto.

Desta forma, a título de exemplificação, os solventes mencionados na patente US-6.043.063 e suas respectivas temperaturas de extração de PHA em graus Celsius, entre parênteses, são apresentados na lista abaixo: butirato de etila (120°C), propionato de propila (118°C), acetato de butila (120°C), propionato de butila (123°C), acetato tetrahidrofurfurílico (121°C), propionato de metila (75°C), normal-valerato de metila (115°C), 1-butanol (116°C), 2-metil-1-butanol (117°C), 3-metil-1-butanol (125°C e 126°C), 1-pentanol (125°C e 126°C), 3-pentanol (115°C), álcool amílico (128°C), 1-hexanol (134°C), etil diacetato glicol (137°C), álcool tetrahidrofurfurílico (117°C), metil-amil-cetona (120°C), meti-isobutil-cetona (115°C), acetofenona (110°C), 1,2-diaminopropano (115°C), alfa-metil-estireno (126°C), dimetil sulfóxido (117°C), propileno carbonato (110°C), 1,2,3-trimetil-benzeno (121°C), dimetilacetamina (90°C) e dimetil-formamida (90°C). Estes solventes só terão potencial de utilização industrial, se associados a eles houverem processos eficazes no que tange a baixa exposição do biopolímero à degradação térmica. No entanto, nenhuma menção é feita às

propriedades dos materiais obtidos, especialmente as referentes ao peso molecular do produto.

Outro fato relevante à viabilização industrial desta via de extração de PHA, é que, por se tratar de um processo intensivo em energia, deve se ter em mente que a viabilidade do produto também estará intimamente ligada à disponibilidade de fonte renovável de energia de baixo custo.

Considerando todos os fatores anteriormente abordados, de uma maneira geral as propriedades de biodegradabilidade e sustentabilidade dos PHAs, embora possam justificar preços mais elevados que os polímeros tradicionais da indústria petroquímica, a disposição dos mercados em assimilar estes preços é bastante limitada (Braunegg G, Lefebvre G, Genser FK (1998) Polyhydroxyalkanoates, biopolyesters from renewable resources: Physiological and engineering aspects. J. Biotech. 65: 127-161).

Desta forma, processos industriais de produção de PHAs devem contemplar: linhagens de microorganismos altamente eficientes na conversão da matéria-prima em polímero, com protocolo de produção simples e eficiente; matérias-primas de baixo custo e com alto aproveitamento; procedimento de extração e purificação do polímero que permita a obtenção de um produto de elevada pureza, preservando ao máximo as características originais do biopolímero, com alto rendimento e eficiência e através de processos não agressivos ao meio ambiente.

Além destes aspectos econômicos, em se tratando de um produto ambientalmente mais amigável, todo seu processo de produção também o deve ser. Portanto, a utilização de produtos danosos ao ambiente em qualquer etapa da produção deve ser evitada. Ainda, a fonte de energia utilizada para rodar o processo de produção deve vir de fonte renovável. Não faria sentido produzir-se um plástico de baixo impacto ambiental se, em sua produção, forem utilizadas unicamente fontes de energia não renováveis, por exemplo. Uma abordagem bastante

interessante para este problema é a incorporação de toda a cadeia produtiva do bioplástico pela agroindústria, em particular pela indústria sucro-alcooleira (Nonato, R.V., Mantelatto, P.E., Rossell, C.E.V., "Integrated Production of Biodegradable Plastic (PHB), Sugar and Ethanol", Appl. Microbiol. Biotechnol. 57:1-5, 2001).

Representando um dos maiores sucessos mundiais na produção de combustíveis alternativos, a indústria sucro-alcooleira no Brasil é responsável por cerca de 25% de todo o álcool e açúcar produzidos no planeta. Apesar de ter apresentado uma imagem ambientalmente negativa no início do programa brasileiro do Proálcool, este tipo de indústria é na realidade um exemplo de tecnologia sustentável. Toda a energia necessária para rodar o processo de produção é gerada in loco, queimando-se em caldeiras o bagaço da cana para produção de energia térmica e elétrica. Existe ainda um excedente de energia, que pode ser utilizado em outros processos industriais incorporados.

Energia renovável e barata, aliada à disponibilidade de matérias-primas de custo reduzido - açúcar e melaço - e solventes naturais, obtidos como subprodutos da fermentação alcoólica, torna a indústria sucro-alcooleira o berço ideal para a produção de bioplástico.

Por conseguinte, a presente invenção reúne todas as características acima relacionadas, necessárias à viabilização de um processo industrial para recuperação de polihidroxicarboxilatos (PHAs), preferivelmente a partir de biomassa úmida de bactérias, utilizando solventes não halogenados e não agressivos ao meio ambiente, gerando um produto de elevada pureza e peso molecular, utilizando fontes de matérias-primas e energia renováveis oriundas da indústria sucro-alcooleira da cana-de-açúcar

Sumário da invenção

A invenção objeto desta patente está relacionada a um processo, já comprovado industrialmente, para extração e recuperação de polihidroxicarboxilatos (PHAs), a partir de

biomassa úmida de bactérias, sendo que o processo compreende: a) tratar a biomassa, lavada, floculada e concentrada, com um solvente de PHA promovendo a rápida separação da solução de PHA enriquecida com PHA extraído, deixando para trás uma corrente concentrada em biomassa insolúvel; b) Resfriamento rápido da solução de PHA previamente extraído em a, promovendo desta maneira a precipitação de PHA; c) concentração a frio da suspensão de PHA previamente precipitada em b, através da remoção de solvente e impurezas, neste dissolvidas; d) remoção parcial de solvente de PHA, da suspensão previamente obtida em c, por evaporação, até obtenção de aglomerados de grânulos que são simultaneamente cisalhados e lavados de maneira a obter uma suspensão de partículas finas de PHA em água e solvente residual de PHA, nesta dissolvido; e) evaporação final do solvente residual do material até a obtenção de uma suspensão de PHA em água.

Breve descrição dos desenhos

A invenção será a seguir descrita, fazendo-se referência ao desenho anexo, cuja figura 1, única, representa um fluxograma simplificado do processo em questão.

Descrição detalhada da invenção

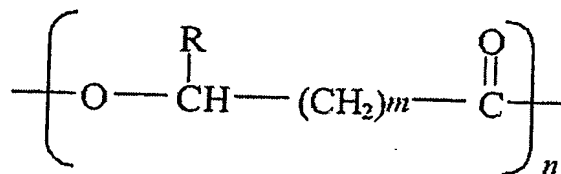
Descreve-se a seguir uma lista de definições de termos utilizados na descrição da presente invenção:

- 25 - "Alcenila" significa uma cadeia carbônica insaturada, de C_1 a C_n , onde n varia de 2 a cerca de 20, podendo essa cadeia carbônica ser linear, ramificada ou cíclica e a insaturação ser monoinsaturada, ou seja, com uma dupla ou uma tripla ligação na cadeia carbônica; ou
- 30 polinsaturada, isto é, com duas ou mais duplas ligações, ou com duas, ou mais triplas ligações, ou ainda com uma ou mais duplas ligações e uma ou mais triplas ligações na cadeia carbônica.
- "Alquila" significa uma cadeia carbônica saturada, de C_1 a C_n , onde n varia de 2 a cerca de 20, podendo essa
- 35 cadeia carbônica ser reta, ramificada ou cíclica.
- "Biomassa Celular" significa uma biomassa proveniente

de qualquer microorganismo ou planta que produza PHA, naturalmente ou mediante modificação genética para torná-la produtora de PHA ou para torná-la mais produtora de PHA.

- 5 - "Compreende" ou "Compreender" significa que outros passos, ou outras etapas, ou outros compostos, ou outros ingredientes que não afetam o resultado final podem ser adicionados ou estar presentes. Esse termo pode também ser substituído por, ou substituir os termos:
- 10 "constituído de" "constituído por", "constituído essencialmente de" e "constituído essencialmente por".
- "Da" significa Dalton, unidade de medida de peso molecular de polímeros.
- "Extraíir polihidroxialcanoatos de uma biomassa" ou
- 15 "Extração de polihidroxialcanoatos de uma biomassa" significa extrair ou a extração de um determinado PHA produzido por uma biomassa produtora de um único tipo de PHA, e adicionalmente pode também significar extrair ou a extração de mais de um tipo de PHA produzido por uma
- 20 biomassa, para situações onde a biomassa produtora de PHA, produza mais que um único tipo de PHA.
- "Extrato Bruto" significa a suspensão constituída pelo solvente de PHA enriquecido com o PHA extraído da massa de células de PHA, contendo nele dissolvidas água e
- 25 impurezas extraídas da massa celular, e pelos sólidos insolúveis que é o resíduo da biomassa celular, da qual que o PHA foi extraído.
- "Polihidroxialcanoatos" e "PHA" significa um polímero que engloba a seguinte unidade de repetição:

30



onde R é preferencialmente o H ou o radical alquila ou o

radical alcenila e m varia de 1 a 4.

- "Pressão substancialmente atmosférica" significa uma pressão muito próxima à atmosférica, isto é igual ligeiramente superior ou inferior à pressão atmosférica.
- 5 - "Reator de Extração" significa o equipamento no qual se processa a operação de extração do PHA da biomassa celular produtora de PHA.
- "Resfriar rapidamente" uma corrente (solução ou suspensão) significa: resfriar essa corrente (solução ou suspensão) em alguns segundos, por expansão, por troca térmica com outra corrente mais fria e/ou por resfriamento por meio de trocadores de calor.
- 10 - "Solvente" significa uma substância capaz de dissolver outra substância denominada soluto, de modo a formar uma mistura, denominada solução, de um soluto uniformemente disperso no solvente, ao nível de dimensão molecular ou ao nível de dimensão iônica.
- "Solvente de PHA" significa uma substância capaz de dissolver polihidroxialcanoatos.
- 15 - "Solvente de PHA enriquecido" ou "solução de solvente de PHA enriquecida" significa uma solução de solvente de PHA contendo o PHA extraído da biomassa celular produtora de PHA.
- "Virtualmente isento de" ou "praticamente isento de" significa "ter muito pouca quantidade de" ou "ter presença de traços de" ou "ter uma quantidade não significativa de" ou "ter uma quantidade quase imperceptível de".
- 25
- A invenção objeto desta patente está relacionada, a um processo, já comprovado industrialmente, para extração e recuperação de polihidroxialcanoatos (PHAs), preferivelmente, a partir de biomassa úmida de microorganismos, utilizando solventes não halogenados e não agressivos ao meio ambiente, permitindo a obtenção de
- 30
- polihidroxialcanoatos (PHAs) de elevada pureza e peso molecular, utilizando fontes de matérias-primas e energia renováveis, oriundas da indústria sucro-alcooleira da
- 35

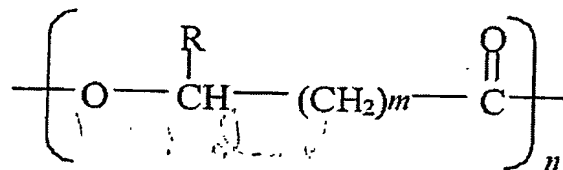
cana-de-açúcar.

Há um número relativamente grande de publicações descrevendo a extração de PHA por solventes não halogenados de fontes de biomassa de microorganismo ou vegetal. No entanto, quando se busca aplicar em escala comercial os ensinamentos descritos, denota-se uma grande dificuldade em se obter um produto com as propriedades originais do biopolímero intracelular preservadas, características estas, na maioria das vezes, fundamentais a elaboração de produtos comerciais. O que se observa é que, na maioria destas publicações, pouca atenção é dada a termosensibilidade do produto a elevadas temperaturas. A maioria dos solventes não halogenados, mencionados como candidatos a extração de PHA, apresentam baixa solubilidade para este soluto e requerem temperaturas elevadas, normalmente acima de 70°C, para sua extração e recuperação. Quando se busca processar a extração de PHA com tais solventes, em escala comercial, os tempos necessários à recuperação de PHA muitas vezes se tornam longos demais, o bastante para degradá-lo termicamente de maneira irreversível. O produto assim obtido, dependendo do tempo de exposição a temperatura elevada, torna-se restrito a um número muito limitado de aplicações na indústria, ou até mesmo a mais nenhuma aplicação.

A presente invenção reporta um processo em escala industrial, onde as etapas de processamento são combinadas de maneira tal a permitir: a) minimizar o tempo de exposição da maior parte do PHA extraído da biomassa celular a temperaturas elevadas, utilizando solventes não halogenados, possibilitando minimizar sua degradação, de maneira a preservar o máximo possível suas propriedades originais, especialmente seu peso molecular; b) obtenção de um produto de elevada pureza, normalmente superior a 99%, preservando a cor natural do biopolímero, e virtual ausência de solvente residual, sem a necessidade de inclusão no processo de etapas adicionais específicas para remoção de cor e de purificação do PHA

produzido; c) obter um elevado nível de recuperação do PHA de biomassa, normalmente superiores a 90%; d) utilizar, de maneira integrada, fontes renováveis de matérias-primas e energia oriundas da indústria sucro-alcooleira, permitindo aumentar a rentabilidade dos complexos industriais produtores de açúcar e álcool.

Os métodos da presente invenção são aplicáveis a PHAs produzidos por microorganismos ou plantas de ocorrência natural ou geneticamente modificados, ou PHAs sinteticamente produzidos. PHA é um polímero constituído por repetições da seguinte unidade:



onde R é um grupo alquila ou alcenila de comprimento variável e m e n são números inteiros, sendo que, nos polímeros mencionados acima, R e m assumem os seguintes valores:

- PHB: R=CH₃, m=1
 PHB-V: R=CH₃ ou CH₃-CH₂-, m=1
 P4HB: R=H, m=2
 P3HB-4HB: R=H ou CH₃, m=1 ou 2
 PHHx: R=CH₃-CH₂-CH₂-, m=1

Esta invenção é aplicável a PHAs recuperados de biomassa de microorganismos, preferivelmente a PHB (poli-3-hidroxibutirato), PHB-V (poli(hidroxibutirato-co-hidroxivalerato)), P4HB (poli-4-hidroxibutirato), P3HB4HB (poli(3-hidroxibutirato-co-4-hidroxibutirato)) e alguns PHAmcl (polihidroxialcanoatos de cadeia média), sendo o representante típico desta última família o PHHx (polihidroxihexanoato).

Processo de extração de PHAs utilizando solventes não halogenados, com baixo tempo de exposição do biopolímero a condição de degradação térmica.

A presente invenção refere-se a um processo de acordo com o qual a biomassa contendo PHA, previamente inativada termicamente, recebe a adição de água numa proporção mássica de fermentado : água, entre 0,3:1,0 e 2,0:1,0, através do qual a posterior coagulação das células de PHA e lavagem dos materiais extracelulares, oriundos da etapa anterior de fermentação, é facilitada. A coagulação das células fermentadas, previamente diluídas, é obtida mediante a adição de ácido sulfúrico e/ou fosfórico, mais preferivelmente ácido fosfórico de grau industrial, até ser obtido um pH entre 1,5 e 4,5, e preferencialmente entre 2,0 e 3,0. O fermentado diluído e acidificado recebe então a adição de uma suspensão de hidróxido de cálcio, preferencialmente de grau industrial, até ser obtido um pH entre 7 e 12, e preferencialmente entre 7 e 9, em seguida recebendo a adição de um polieletrólito flocculante aniônico. A adição sequencial destes elementos permite a formação de fosfatos de cálcio que formam pontes com as paredes das células de microorganismos contendo o PHA, com carga resultante positiva e que são agregadas num floco através do polieletrólito aniônico, isto é, carregado negativamente, levando à formação de floco estável e com densidade superior a do líquido que os envolve. Os flocos formados, contendo as células com PHA acumulado, são então facilmente separados do líquido envolvente contendo as impurezas oriundas da fermentação, pela ação da força da gravidade, utilizando, por exemplo, decantadores estáticos ou através da força centrífuga, fazendo-se uso, por exemplo neste caso, de centrífugas ou "decanters".

O presente processo permite, portanto, promover a remoção parcial das impurezas extracelulares dissolvidas no líquido, através da separação deste dos flocos, principalmente os elementos coloridos e demais sais

solúveis, prejudiciais às etapas posteriores de processamento; permite ainda a formação de um lodo de biomassa concentrada, contendo flocos estáveis e com densidade aumentada em relação à célula de microorganismo que contém internamente PHA acumulado e, mais ainda, 5 acentuadamente aumentada em relação ao solvente que será posteriormente utilizado para extração de PHA. A biomassa floculada é então submetida a um processo de concentração e lavagem, mediante a ação de uma força centrífuga, 10 resultando num lodo de biomassa concentrado na faixa de 10 a 40 % (peso / peso), mais preferivelmente 25 a 35%. A biomassa concentrada e úmida é então submetida a extração do PHA intracelular, mediante um contato vigoroso desta com o solvente aquecido, na forma líquida 15 e na forma vapor, de modo a obter-se uma temperatura de extração que vai de 90°C até a temperatura de ebulição do solvente (à pressão atmosférica). Este procedimento tem também o efeito de remover a maior parte da água alimentada com o lodo na forma de um vapor que é uma 20 mistura binária constituída de solvente de PHA e água, deixando para trás uma suspensão constituída de uma solução de solvente de PHA enriquecido em PHA e uma pequena fração de água dissolvida no solvente, além de resíduos insolúveis da biomassa extraída. O contato entre 25 o solvente extrator e a biomassa de PHA é promovido em condições controladas e por sistema de agitação dimensionado para permitir contato vigoroso entre as partes, e garantir um resíduo de biomassa insolúvel com tamanho uniforme de partículas, o que facilita as 30 operações posteriores. A corrente então obtida, aqui denominada de F, constituída pela suspensão contendo PHA e água, dissolvidos no solvente e resíduos de biomassa insolúveis, é então alimentada num elemento separador centrífugo, por exemplo um hidrociclone, onde a aplicação 35 de uma força centrífuga de baixa intensidade (algumas vezes a força gravitacional), leva à geração de duas correntes: uma corrente constituída de uma suspensão com

baixa concentração de sólidos insolúveis residuais de biomassa em uma solução contendo PHA e pequena fração de água dissolvidos no solvente de PHA, aqui denominada corrente O, e outra contendo uma suspensão concentrada em resíduos de biomassa insolúvel em uma solução contendo PHA e pequena fração de água dissolvida, denominada aqui de corrente U. A separação das duas correntes efluentes do elemento separador centrífugo é feita de modo que a corrente U seja de cerca de 15 a 35% (peso/peso) da corrente F, e contenha cerca de 55 a 75% (peso/peso) dos sólidos originalmente presentes na corrente F e contendo ainda uma fração de PHA intracelular a ser recuperada. A separação destas duas correntes, como aqui descrita, efetuada sob efeito de uma força centrífuga de baixa intensidade, em equipamentos/estáticos, robustos e de baixo custo, como é o caso por exemplo da utilização de hidrociclones, dispensa portanto a utilização de centrífugas mecânicas de alto custo, e que requereriam a utilização de atmosferas de gás inerte, dados os limites de explosividade e inflamabilidade dos solventes de PHA. Esta separação é aqui assegurada pela maior densidade das partículas de sólidos insolúveis residuais em relação ao solvente, conferida pela coagulação inicial, onde partículas pesadas, como as de fosfatos de cálcio, ligaram-se às células contendo PHA intracelular e constituintes da biomassa. Outro efeito importante é a capacidade do sistema extrator em obter uma distribuição de partículas com granulometria uniforme durante a extração, o que assegura uma alta eficiência de separação e concentração dos sólidos contendo PHA intracelular não extraído, mediante a utilização de um elemento separador centrífugo de baixa intensidade.

A corrente O é então submetida a um processo de microfiltração por membrana onde são geradas duas correntes: uma corrente P, permeada através da membrana, e uma corrente C, de concentrado da membrana. A corrente P, que é de cerca de 50% a 90% (peso/peso) da corrente O,

é isenta de sólidos insolúveis e contém PHA, água e pequenas frações de cinzas e compostos coloridos dissolvidos no solvente de PHA, sendo imediatamente resfriada a temperatura de cerca de 45°C ou inferior. A corrente C, que é cerca de 10 a 50% da corrente O, é concentrada em relação à concentração de sólidos residuais de biomassa extraída em cerca de 2 a 10 vezes o conteúdo original destes sólidos na corrente O e contém ainda uma fração de PHA, água, cinzas e compostos coloridos dissolvidos no solvente de PHA.

A corrente U e a corrente C, concentradas em resíduos insolúveis de biomassa extraída e empobrecidas em PHA podem ser juntadas e enviadas a um processo de recuperação do PHA remanescente dissolvido no solvente de PHA, por um processo de separação, por exemplo por filtração, onde é gerada uma corrente filtrada (denominada FI), contendo PHA, água, cinzas, compostos coloridos, dissolvidas no solvente de PHA, e uma torta final, aqui denominada T, contendo os sólidos insolúveis residuais da biomassa extraída.

Opcionalmente a corrente U, a corrente C e uma nova quantidade de solvente de PHA, na forma líquida e na forma vapor, podem ser novamente misturadas, em condições adequadas de agitação, compondo então uma nova corrente, e novamente submetida ao processo anteriormente descrito. Desta forma o efluente final, então resultante, concentrado em resíduos insolúveis de biomassa extraída e empobrecido em PHA, é finalmente submetido a um processo de recuperação do PHA remanescente, dissolvido no solvente de PHA, por um processo de separação, por exemplo por filtração. O processo de extração descrito compreende um número de estágios tal, que torna possível a recuperação de quantidades superiores a cerca de 95% (peso/peso) do PHA originalmente contido na biomassa, com tempos de retenção inferiores a cerca de 10 a 20 minutos, preservando portanto as características originais do PHA. Opcionalmente, ainda, a corrente O que contém os sólidos

insolúveis remanescentes do processo efetuado no elemento separador centrífugo (por exemplo um hidrociclone), pode ser enviada para um processo de separação dos sólidos insolúveis, sem passar por processo de microfiltração por membrana, obtendo-se desta forma uma corrente de filtrado, contendo PHA dissolvido no solvente e isenta de qualquer sólido insolúvel da biomassa e deixando para traz uma torta contendo tais impurezas insolúveis. O PHA recuperado desta forma possui peso molecular ligeiramente menor que o obtido por microfiltração por membrana.

Ainda opcionalmente a corrente de extrato bruto F, contendo os resíduos insolúveis de biomassa extraída, também poderá ser enviada diretamente ao processo de recuperação do PHA dissolvido no solvente de PHA, sem passar pelo elemento separador centrífugo e pela microfiltração em membrana; apresentando o PHA neste caso qualidade parecida à opção anterior, porém possuindo um peso molecular ligeiramente diminuído em relação à mesma, pelo incremento no tempo de retenção do polímero decorrente do processo de separação dos sólidos insolúveis.

A corrente P e a corrente FI, acima descritas, isentas de resíduos insolúveis de biomassa e contendo PHA, água, cinzas e alguns compostos coloridos, dissolvidos no solvente de PHA, ao serem resfriadas a temperaturas em torno de 45°C ou inferiores a esta, provocam a precipitação de PHA, formando uma suspensão. Esta precipitação pode ainda ser auxiliada pela introdução de um germen de cristalização.

A suspensão de PHA em solvente de PHA, contendo neste dissolvidos água, cinzas e compostos coloridos dissolvidos, é então submetida a um processo de separação, preferivelmente por membranas microporosas. Este processo permite a obtenção de uma corrente de permeado PE, que é de cerca de 75% a 85% do fluxo mássico alimentado na membrana, constituída por solvente de PHA,

água, cinzas solúveis e compostos coloridos dissolvidos no solvente de PHA e virtualmente isenta de PHA; e uma outra corrente, de cerca de 25% a 15% da corrente alimentada, que é constituída de uma suspensão concentrada de PHA e uma fração de cinzas e compostos coloridos dissolvidos no solvente de PHA. Esta etapa, da maneira como descrita nesta invenção, além de permitir concentrar a suspensão de PHA de 4 a 10 vezes a originalmente alimentada no processo, em condições altamente favoráveis à preservação do peso molecular do PHA, num processo a baixa temperatura e pela via física (membranas), leva ainda à eliminação simultânea de cerca de 75% a 90% das impurezas até então constituintes da suspensão de PHA.

15 A suspensão previamente concentrada de PHA, com uma concentração de PHA variável entre cerca de 3,5% a 10% (peso/peso) e definida pela corrente S na figura 1, é então submetida a uma etapa de concentração por evaporação, à pressão atmosférica, e preferencialmente em

20 múltiplos efeitos a vácuo, nos quais são alimentados simultaneamente, a suspensão de PHA e uma corrente de água fraca AF, recuperada no processo, contendo solvente de PHA nela dissolvido. Esta água fraca é alimentada nos evaporadores numa proporção tal que permita se obter uma

25 suspensão contendo basicamente PHA, solvente de PHA e água, formando aglomerados de grânulos de PHA, dotados de alta porosidade, fragilmente aglomerados e facilmente cisalháveis. Esta suspensão é então, simultaneamente com a evaporação, submetida a um processo de cominuição em um

30 elemento de cisalhamento mecânico, onde os aglomerados de grânulos de PHA, com alta porosidade e frágeis, são rápida e adequadamente rompidos, de modo a obter uma suspensão de partículas de PHA, muito mais finas, que podem ser abundantemente lavadas durante o processo de

35 evaporação do solvente de PHA. Esta suspensão, à qual é adicionada uma corrente de água fraca (AF1), é então submetida à evaporação do solvente residual final,

"stripping", até seu esgotamento no líquido remanescente (licor mãe), mediante a injeção de vapor vivo, simultaneamente com recirculação da suspensão obtida na etapa anterior. Através da repetição do processo de cisalhamento, durante a evaporação, é possível se obter uma cominuição controlada do PHA até torná-lo um pó em suspensão no líquido remanescente livre de solvente. Terminado o processo, obtém-se, portanto, uma suspensão de partículas de PHA finamente dispersa no líquido remanescente (licor mãe), que por sua vez contém, dissolvidas, as impurezas removidas do PHA. Esta suspensão é então resfriada rapidamente até cerca de 45°C ou menos e submetida a um processo de separação do sólido do líquido, por exemplo por filtração e enxágue do bolo filtrado com água limpa, contendo as partículas de PHA. Estas etapas finais de evaporação, "stripping", resfriamento, e filtração permitem, portanto, ao mesmo tempo em que se efetua a evaporação, que se efetue o esgotamento do solvente de PHA do meio e a purificação final das partículas de PHA sem danos ao peso molecular do PHA. Além disso, propicia a obtenção de uma granulometria das partículas adequada ao processo de secagem, permitindo a utilização de condições brandas de secagem, isto é, com o PHA submetido a baixas temperaturas e tempos de retenção. O biopolímero, PHA, assim obtido apresenta elevado nível de pureza, baixíssimos níveis de solvente residual, cor, cinzas e impureza e um elevado rendimento global, isto é, uma quantidade de PHA recuperado em relação ao PHA contido na biomassa original superiores a cerca de 90% (peso/peso).

EXEMPLOS

EXEMPLO 1.1: INATIVAÇÃO DA BIOMASSA FERMENTADA

10m³ de uma suspensão de biomassa fermentada de *Alcaligenes eutrophus*, contendo 150g/l de matéria seca total, formada por células de bactérias contendo cerca de 60 a 75% em peso de PHB, são passados através de um trocador de calor regenerativo TCR-1, a uma vazão de

4m³/h, recebendo, a seguir, injeção direta de vapor, de modo a elevar a temperatura à 85°C. Esta suspensão é conduzida a um tanque de espera, com volume útil de 1m³ e bombeada de volta ao trocador TCR-1, onde é resfriado pela suspensão de biomassa que entra no processo, por sua vez aquecendo-a. A suspensão de biomassa que deixa o processo, a cerca de 45°C, mantém praticamente inalteradas as concentrações de matéria seca e de PHB. As células de bactéria, porém, têm agora seu sistema enzimático inativado, e portando sendo incapazes de degradar o PHB acumulado. Esta suspensão é então encaminhada ao processo de coagulação e decantação.

EXEMPLO 1.2: LAVAGEM E CONCENTRAÇÃO DE BIOMASSA FERMENTADA

Em 5m³ de Biomassa de PHB fermentada de *Alcaligenes eutrophus* e previamente inativada são adicionados 5m³ de água sob agitação branda, e em seguida ácido fosfórico até pH 2,8 a 3,5 e leite de cal até pH 7,0 a 8,0. A suspensão de biomassa coagulada recebe então a adição de 10 a 20 ppm de um polieletrólito aniônico, sendo lentamente agitada e em seguida mantida em repouso para decantação. O sobrenadante é então removido, restando um lodo de biomassa com cerca de 10 a 12% de matéria seca. O lodo obtido é então alimentado numa centrífuga decanter numa vazão de cerca de 1200 kg/h, recebendo ainda a adição de polieletrólito numa quantidade suficiente para floculação e água, numa proporção de cerca de 20% (peso/peso) da vazão de lodo alimentado. O clarificado é então removido, gerando-se cerca de 2400kg de lodo com cerca de 20 a 25% de sólidos dos quais 70 a 75% correspondem a PHB.

EXEMPLO 1.3.1 : EXTRAÇÃO E RECUPERAÇÃO DE PHB UTILIZANDO ÁLCOOL ISOAMÍLICO COMO SOLVENTE, EM ÚNICO ESTÁGIO DE EXTRAÇÃO

A Biomassa de *Alcaligenes eutrophus* concentrada a 25% de matéria seca e contendo cerca de 60 a 75% de PHB com peso molecular de 1.000.000 Da, é alimentada em um reator

mecanicamente agitado, mantido a cerca de 105°C, numa vazão de 350 a 450 kg/h onde recebe a adição de 7290kg/h de álcool isoamílico aquecido a cerca de 105°C e vapor de álcool isoamílico a 135°C, em quantidade suficiente para

5 evaporar o excesso de água contido no lodo, gerando uma corrente de cerca de 1250kg/h de vapor composto de cerca de 15% de água e 85% de álcool isoamílico, e uma outra corrente, denominada de extrato bruto, de cerca de 8000kg/h de uma suspensão contendo PHB (peso molecular de

10 cerca de 900.000 Da) e água dissolvidos no álcool isoamílico e resíduos insolúveis de biomassa extraída. O extrato bruto é então continuamente alimentado num hidrociclone, onde o fluxo é separado em duas correntes: uma corrente de cerca de 75% da vazão de alimentação na

15 parte superior e contendo cerca de 65% dos sólidos insolúveis originalmente contidos no extrato bruto alimentado; e outra na parte inferior de cerca de 25% do fluxo alimentado e contendo 75% dos sólidos insolúveis originalmente neste contidos. A corrente superior do

20 hidrociclone, pobre em sólidos insolúveis, é então alimentada numa unidade de microfiltração por membrana, numa vazão de 6000 kg/h, gerando uma corrente de cerca de 1500 kg/h (1/4) concentrada em sólidos insolúveis residuais da biomassa extraída e uma corrente de permeado

25 de 4500 kg/h (3/4) isenta de sólidos insolúveis residuais da biomassa extraída e enriquecida de PHB com peso molecular na faixa de 800.000 a 880.000 Da. O tempo de retenção no processo é de cerca de 3 a 10 minutos. A corrente rica em sólidos insolúveis do hidrociclone (fase

30 inferior) e da membrana são então misturadas e enviadas a uma etapa de filtração, por exemplo em filtro de pratos, numa razão de 2000 kg/h, gerando uma corrente de cerca de 1800 kg/h, que é uma solução de PHB isenta de sólidos insolúveis em suspensão enriquecida em PHB contendo peso

35 molecular entre 580.000 e 780.000 Da, e uma torta contendo os sólidos insolúveis da biomassa extraída de cerca de 200 kg/h. A recuperação de PHB do processo é

superior a 95% (peso/peso) em relação ao PHB alimentado da biomassa, isto é, 50 a 80kg de PHB/h, dependendo da vazão de biomassa e pureza da mesma. Ambos os filtrados obtidos no processo de extração, da membrana e filtro, são rapidamente resfriados até uma temperatura igual ou inferior a cerca de 45°C de modo a garantir a precipitação de PHB no solvente. O PHB precipitado em álcool isoamílico oriundo da microfiltração por membrana possui peso molecular na faixa de 800.000 e 870.000 Da e da filtração convencional na faixa de 580.000 a 780.000 Da.

Opcionalmente, a corrente de extrato bruto de cerca de 8000kg/h de uma suspensão contendo PHB (peso molecular de cerca de 900.000 Da) e água dissolvidos no álcool isoamílico e resíduos insolúveis de biomassa extraída é diretamente enviada a etapa de filtração, por exemplo em filtros de pratos, onde são obtidas duas correntes: uma de filtrado de cerca de 7800 kg/h que é uma solução de PHB isenta de sólidos insolúveis em suspensão enriquecida em PHB contendo peso molecular entre 580.000 e 780.000 Da; e uma torta contendo os sólidos insolúveis da biomassa extraída de cerca de 200 kg/h. O filtrado obtido no processo, é então rapidamente resfriado até uma temperatura igual ou inferior a cerca de 45°C de modo a garantir a precipitação de PHB no solvente. O PHB precipitado em álcool isoamílico possui peso molecular na faixa de 580.000 a 780.000 Da

A recuperação de PHB do processo é superior a 95% (peso/peso) em relação ao PHB alimentado da biomassa, isto é, 50 a 80kg de PHB/h, dependendo da vazão de biomassa e pureza da mesma.

EXEMPLO 1.3.2 : EXTRAÇÃO E RECUPERAÇÃO DE PHB UTILIZANDO ÁLCOOL ISOAMÍLICO COMO SOLVENTE, EM TRIPLO ESTÁGIO DE EXTRAÇÃO

Em um arranjo de três reatores em série, a Biomassa de *Alcaligenes eutrophus* concentrada a até 25% de matéria seca e contendo cerca de 60 a 75% de PHB com peso

molecular de cerca de 1.000.000 Da, é alimentada no primeiro reator, mecanicamente agitado, mantido a cerca de 105°C e numa razão de 350 a 450 kg/h. No terceiro reator é alimentado álcool isoamílico numa vazão de 5 7290 kg/h aquecido à cerca de 105°C. Vapor de álcool isoamílico a 135°C é alimentado nos três estágios de extração em quantidade suficiente para garantir a evaporação do excesso de água contido no lodo. Este procedimento leva à geração de uma corrente total de 10 vapor de água e isoamílico de cerca de 1250 kg/h, sendo composta respectivamente de cerca de 15% de água e 85% de álcool isoamílico, e uma outra corrente, efluente do primeiro estágio de extração, denominada de extrato bruto, de cerca de 8000 kg/h de uma suspensão contendo 15 PHB e água dissolvidos no álcool isoamílico e resíduos insolúveis de biomassa extraída. O extrato bruto, efluente do primeiro estágio, é então continuamente alimentado no hidrociclone 1, onde o fluxo é separado em duas correntes: uma corrente de topo, compreendendo cerca 20 de 75% da vazão de alimentação e contendo cerca de 40% a 45% dos sólidos insolúveis originalmente contidos no extrato bruto alimentado; e outra de fundo (na parte inferior) de cerca de 25% do fluxo alimentado e contendo cerca de 55% a 60% dos sólidos insolúveis originalmente 25 neste contidos que é encaminhada ao estágio seguinte (2). A corrente de topo do hidrociclone 1, pobre em sólidos insolúveis, é então alimentada numa unidade de microfiltração por membrana, numa vazão de 6000 kg/h, gerando uma corrente de cerca de 2000 kg/h (1/3) 30 concentrada em sólidos insolúveis residuais da biomassa extraída e uma corrente de permeado de 4000 kg/h (2/3) isenta de sólidos insolúveis residuais da biomassa extraída. A corrente de fundo do hidrociclone 1 é encaminhada para o segundo estágio de extração onde 35 recebe a corrente de topo do hidrociclone 3 e a corrente concentrada em sólidos insolúveis gerado na microfiltração por membrana. A corrente de fundo do

hidrociclone 3, contendo cerca de 55 a 65% dos sólidos insolúveis de biomassa extraída, é então enviada para uma etapa de filtração, por exemplo em filtro de pratos, numa razão de 2000 kg/h, gerando uma corrente de cerca de 1800 kg/h, que é uma solução de PHB isenta de sólidos insolúveis em suspensão, e uma torta contendo os sólidos insolúveis da biomassa extraída de cerca de 200 kg/h. A recuperação de PHB do processo é superior a 98% (peso/peso) em relação ao PHB alimentado da biomassa, isto é, 51 a 82 kg de PHB/h, dependendo da vazão de biomassa alimentada e sua pureza. Ambos os filtrados obtidos no processo de extração, da membrana e filtro, são rapidamente resfriados até uma temperatura igual ou inferior a cerca de 45°C, de modo a garantir a precipitação de PHB no solvente, álcool isoamílico .

Opcionalmente a corrente de topo do hidrociclone 1 de cerca de 6000 kg/h, pobre em sólidos insolúveis, é então diretamente enviada a etapa de filtração, por exemplo em filtros de pratos, onde são obtidas duas correntes: uma de filtrado de cerca de 5800 kg/h que é uma solução de PHB isenta de sólidos insolúveis em suspensão enriquecida em PHB contendo peso molecular entre 650.000 e 780.000 Da; e uma torta contendo os sólidos insolúveis da biomassa extraída de cerca de 200 kg/h. O filtrado obtido no processo, é então rapidamente resfriado até uma temperatura igual ou inferior a cerca de 45°C de modo a garantir a precipitação de PHB no solvente. O PHB precipitado em álcool isoamílico possui peso molecular na faixa de 650.000 a 780.000 Da

A recuperação de PHB do processo é superior a 95% (peso/peso) em relação ao PHB alimentado da biomassa, isto é, 50 a 80kg de PHB/h, dependendo da vazão de biomassa e pureza da mesma.

EXEMPLO 1.3.3 : EXTRAÇÃO E RECUPERAÇÃO DE PHB UTILIZANDO ACETATO DE ISOAMILA COMO SOLVENTE, EM ÚNICO ESTÁGIO DE EXTRAÇÃO

A Biomassa de *Alcaligenes eutrophus* concentrada a 25% de matéria seca e contendo cerca de 60 a 75% de PHB com peso molecular de cerca de 1.000.000 Da , é alimentada em um reator mecanicamente agitado, mantido a cerca de 99 a 105°C, numa vazão de 500 kg/h onde recebe a adição de 6500 kg/h de acetato de isoamila aquecido a cerca de 127°C e vapor de acetato de isoamila a 148°C, em quantidade suficiente para evaporar o excesso de água contido no lodo, gerando uma corrente de cerca de 764kg/h de vapor composto de cerca de 35% de água e 65% de acetato de isoamila, e uma outra corrente, denominada de extrato bruto, de cerca de 7235 kg/h de uma suspensão contendo PHB e água dissolvidos no acetato de isoamila e resíduos insolúveis de biomassa extraída. O extrato bruto é então continuamente alimentado num hidrociclone, onde o fluxo é separado em duas correntes: uma corrente de cerca de 75% da vazão de alimentação na parte superior e contendo cerca de 35% dos sólidos insolúveis originalmente contidos no extrato bruto alimentado; e outra na parte inferior de cerca de 25% do fluxo alimentado e contendo cerca de 65% dos sólidos insolúveis originalmente neste contidos. A corrente superior do hidrociclone, pobre em sólidos insolúveis, é então alimentada numa unidade de microfiltração por membrana, numa razão de 5426 kg/h, gerando uma corrente de cerca de 1205 kg/h (1/6) concentrada em sólidos insolúveis residuais da biomassa extraída e uma corrente de permeado de 4521 kg/h (5/6) isenta de sólidos insolúveis residuais da biomassa extraída. O tempo de retenção no processo é de cerca de 3 a 10 minutos. A corrente rica em sólidos insolúveis do hidrociclone (fase inferior) e da membrana são então misturadas e enviadas a uma etapa de filtração, por exemplo em filtro de pratos, numa razão de 2714 kg/h, gerando uma corrente de cerca de 2464 kg/h,, que é uma solução de PHB isenta de sólidos insolúveis em suspensão, e uma torta contendo os sólidos insolúveis da biomassa extraída de cerca de 250 kg/h. A recuperação de PHB do

processo é superior a 95% (peso/peso) em relação ao PHB alimentado da biomassa, isto é, 70 a 90kg de PHB/h, dependendo da vazão de biomassa e pureza da mesma. Ambos os filtrados obtidos no processo de extração, da membrana e filtro, são rapidamente resfriados até uma temperatura igual ou inferior a cerca de 45°C de modo a garantir a precipitação de PHB no solvente.

EXEMPLO 1.3.4 : EXTRAÇÃO E RECUPERAÇÃO DE PHBV UTILIZANDO ACETATO DE BUTILA COMO SOLVENTE, EM ÚNICO ESTÁGIO DE EXTRAÇÃO

A Biomassa de *Alcaligenes eutrophus* concentrada a 25% de matéria seca e contendo cerca de 60 a 75% de PHBV (9,0% HV) e peso molecular de cerca de 1.000.000 Da, é alimentada em um reator mecanicamente agitado, mantido a cerca de 99 a 105°C, numa vazão de 500 kg/h onde recebe a adição de 8000 kg/h de acetato de butila aquecido à cerca de 130°C e vapor de acetato de butila a 133°C, em quantidade suficiente para evaporar o excesso de água contido no lodo, gerando uma corrente de cerca de 1.142kg/h de vapor composto de cerca de 33 % de água e 67 % de acetato de butila, e uma outra corrente, denominada de extrato bruto, de cerca de 8357 kg/h de uma suspensão contendo PHBV e água dissolvidos no acetato de butila e resíduos insolúveis de biomassa extraída. O extrato bruto é então continuamente alimentado num hidrociclone, onde o fluxo é separado em duas correntes: uma corrente de cerca de 75% da vazão de alimentação na parte superior e contendo cerca de 35% dos sólidos insolúveis originalmente contidos no extrato bruto alimentado; e outra na parte inferior de cerca de 25% do fluxo alimentado e contendo cerca de 65% dos sólidos insolúveis originalmente neste contidos. A corrente superior do hidrociclone, pobre em sólidos insolúveis, é então alimentada numa unidade de microfiltração por membrana, numa razão de 6268 kg/h, gerando uma corrente de cerca de 1044 kg/h (1/6) concentrada em sólidos insolúveis residuais da biomassa extraída e uma corrente

de permeado de 5224 kg/h (5/6) isenta de sólidos insolúveis residuais da biomassa extraída. O tempo de retenção no processo é de cerca de 3 a 10 minutos. A corrente rica em sólidos insolúveis do hidrociclone (fase inferior) e da membrana são então misturadas e enviadas a uma etapa de filtração, por exemplo em filtro de pratos, numa razão de 3133 kg/h, gerando uma corrente de cerca de 2883 kg/h,, que é uma solução de PHA isenta de sólidos insolúveis em suspensão, e uma torta contendo os sólidos insolúveis da biomassa extraída de cerca de 250 kg/h. A recuperação de PHBV do processo é superior a 95% (peso/peso) em relação ao PHBV alimentado da biomassa, isto é, 70 a 90kg de PHBV/h, dependendo da vazão de biomassa e pureza da mesma. Ambos os filtrados obtidos no processo de extração, da membrana e filtro, são rapidamente resfriados até uma temperatura igual ou inferior a cerca de 45°C de modo a garantir a precipitação de PHBV no solvente.

EXEMPLO 1.3.5 : EXTRAÇÃO E RECUPERAÇÃO DE PHB UTILIZANDO PROPIONATO DE PROPILA COMO SOLVENTE, EM ÚNICO ESTÁGIO DE EXTRAÇÃO

A Biomassa de *Alcaligenes eutrophus* concentrada a 25% de matéria seca e contendo cerca de 60 a 75% de PHB com peso molecular de cerca de 1.000.000 Da, é alimentada em um reator mecanicamente agitado, mantido a cerca de 95 a 105°C, numa vazão de 500 kg/h onde recebe a adição de 8000 kg/h de propionato de propila aquecido a cerca de 130°C e vapor de propionato de propila a 130°C, em quantidade suficiente para evaporar o excesso de água contido no lodo, gerando uma corrente de cerca de 1.230kg/h de vapor composto de cerca de 24 % de água e 76 % de propionato de propila, e uma outra corrente, denominada de extrato bruto, de cerca de 8268 kg/h de uma suspensão contendo PHB e água dissolvidos no propionato de propila e resíduos insolúveis de biomassa extraída. O extrato bruto é então continuamente alimentado num hidrociclone, onde o fluxo é separado em

duas correntes: uma corrente de cerca de 75% da vazão de alimentação na parte superior e contendo cerca de 35% dos sólidos insolúveis originalmente contidos no extrato bruto alimentado; e outra na parte inferior de cerca de 25% do fluxo alimentado e contendo cerca de 65% dos sólidos insolúveis originalmente neste contidos. A corrente superior do hidrociclone, pobre em sólidos insolúveis, é então alimentada numa unidade de microfiltração por membrana, numa razão de 6201 kg/h, gerando uma corrente de cerca de 1034 kg/h (1/6) concentrada em sólidos insolúveis residuais da biomassa extraída e uma corrente de permeado de 5167 kg/h (5/6) isenta de sólidos insolúveis residuais da biomassa extraída. O tempo de retenção no processo é de cerca de 3 a 10 minutos. A corrente rica em sólidos insolúveis do hidrociclone (fase inferior) e da membrana são então misturadas e enviadas a uma etapa de filtração, por exemplo em filtro de pratos, numa razão de 3100 kg/h, gerando uma corrente de cerca de 2850 kg/h,, que é uma solução de PHB isenta de sólidos insolúveis em suspensão, e uma torta contendo os sólidos insolúveis da biomassa extraída de cerca de 250 kg/h. A recuperação de PHB do processo é superior a 95% (peso/peso) em relação ao PHB alimentado da biomassa, isto é, 70 a 90kg de PHB/h, dependendo da vazão de biomassa e pureza da mesma. Ambos os filtrados obtidos no processo de extração, da membrana e filtro, são rapidamente resfriados até uma temperatura igual ou inferior a cerca de 45°C de modo a garantir a precipitação de PHB no solvente.

30 EXEMPLO 1.3.6 : EXTRAÇÃO E RECUPERAÇÃO DE PHBV UTILIZANDO 1-HEXANOL COMO SOLVENTE, EM ÚNICO ESTÁGIO DE EXTRAÇÃO

A Biomassa de *Alcaligenes eutrophus* concentrada a 25% de matéria seca e contendo cerca de 60 a 75% de PHBV(15% HV) e peso molecular de cerca de 1.000.000 Da, é alimentada em um reator mecanicamente agitado, mantido a cerca de 105 a 115°C, numa vazão de 500 kg/h onde recebe a adição de 2600 kg/h de 1-hexanol aquecido a cerca de 162°C e

vapor de 1-hexanol a 162°C, em quantidade suficiente para evaporar o excesso de água contido no lodo, gerando uma corrente de cerca de 611 kg/h de vapor composto de cerca de 45 % de água e 55 % de 1-hexanol, e uma outra

5 corrente, denominada de extrato bruto, de cerca de 3288 kg/h de uma suspensão contendo PHB e água dissolvidos no 1-hexanol e resíduos insolúveis de biomassa extraída. O extrato bruto é então continuamente alimentado num hidrociclone, onde o fluxo é separado em

10 duas correntes: uma corrente de cerca de 75% da vazão de alimentação na parte superior e contendo cerca de 35% dos sólidos insolúveis originalmente contidos no extrato bruto alimentado; e outra na parte inferior de cerca de 25% do fluxo alimentado e contendo cerca de 65% dos

15 sólidos insolúveis originalmente neste contidos. A corrente superior do hidrociclone, pobre em sólidos insolúveis, é então alimentada numa unidade de microfiltração por membrana, numa razão de 2466 kg/h, gerando uma corrente de cerca de 411 kg/h (1/6)

20 concentrada em sólidos insolúveis residuais da biomassa extraída e uma corrente de permeado de 2055 kg/h (5/6) isenta de sólidos insolúveis residuais da biomassa extraída. O tempo de retenção no processo é de cerca de 3 a 10 minutos. A corrente rica em sólidos insolúveis do

25 hidrociclone (fase inferior) e da membrana são então misturadas e enviadas a uma etapa de filtração, por exemplo em filtro de pratos, numa razão de 1233 kg/h, gerando uma corrente de cerca de 983 kg/h,, que é uma solução de PHA isenta de sólidos insolúveis em suspensão,

30 e uma torta contendo os sólidos insolúveis da biomassa extraída de cerca de 250 kg/h. A recuperação de PHBV do processo é superior a 95% (peso/peso) em relação ao PHBV alimentado da biomassa, isto é, 70 a 90 kg de PHBV/h dependendo da vazão de biomassa e pureza da mesma. Ambos

35 os filtrados obtidos no processo de extração, da membrana e filtro, são rapidamente resfriados até uma temperatura igual ou inferior a cerca de 45°C de modo a garantir a

precipitação de PHBV no solvente.

EXEMPLO 1.4: PURIFICAÇÃO POR MICROFILTRAÇÃO DA SUSPENSÃO DE PHB PRECIPITADO EM ÁLCOOL ISOAMÍLICO

A suspensão de PHB em álcool isoamílico, contendo cerca de 0,8% de matéria seca e cerca de 0,1% de impurezas solúveis, obtida conforme procedimento descrito no exemplo 1.3, é submetida a uma etapa de microfiltração tangencial em módulos de polipropileno tipo fibra oca com 40 m² de área filtrante, a uma vazão de 8m³/h e pressão de 1kgf/cm². Esta etapa gera duas correntes, uma delas de cerca de 1m³/h, formada por uma suspensão concentrada de PHB em álcool isoamílico, contendo cerca de 6,4% de matéria seca, mais 0,1% de impurezas solúveis, e a outra corrente, de cerca de 7m³/h, isenta de PHB em suspensão, mas com a mesma concentração de impurezas solúveis das duas outras correntes. Desta forma, a relação PHB:impurezas solúveis, que na corrente de entrada era 0,8%:0,1%, ou 8:1, passa a ser, na corrente concentrada de saída, de 6,4:0,1, ou 64:1, ou seja, uma diminuição na proporção de impurezas na ordem de 8 vezes. Adicionalmente, a suspensão de PHB de saída do sistema de microfiltração foi concentrada em cerca de 8 vezes, facilitando a etapa posterior de remoção de solvente. A segunda corrente de saída do sistema de microfiltração, isenta de PHB, é enviada para retificação, carregando cerca de 7/8 (88%) das impurezas solúveis da corrente original.

EXEMPLO 1.5:EVAPORAÇÃO PARCIAL DE SOLVENTE E LAVAGEM DA SUSPENSÃO DE PHB EM ÁLCOOL ISOAMÍLICO PARA OBTENÇÃO DE AGLOMERADO DE GRÂNULOS DE ALTA POROSIDADE,FRÁGEIS E FACILMENTE CISALHÁVEIS.

Uma suspensão de PHB em uma solução de álcool isoamílico e água, contendo entre 4 a 10% de PHB, é alimentada num evaporador a vácuo, numa vazão de 1.000 kg/h, juntamente com uma corrente de água, contendo álcool isoamílico dissolvido, a uma taxa de 500 a 1000 kg/h e recuperada do processo de extração e purificação. A mistura é então

continuamente submetida à evaporação, através da injeção direta de vapor, de modo a, simultaneamente com a remoção de solvente por evaporação, obter-se uma suspensão contendo solvente, água e aglomerados de grânulos de PHB, que são continuamente cisalhados através de um dispositivo mecânico instalado na bomba de circulação do sistema. O material resultante deste processo é uma suspensão de partículas de PHB, finamente divididas, em água e álcool isoamílico nesta dissolvido, que é continuamente retirada do sistema, com uma concentração de partículas de PHB em suspensão entre 4 a 20% (peso/peso) e enviada para o estágio seguinte, de esgotamento de solvente.

EXEMPLO 1.6: ESGOTAMENTO DO ÁLCOOL ISOAMÍLICO (SOLVENTE)
DA SUSPENSÃO DE PARTÍCULAS DE PHB FINAMENTE DIVIDIDAS COM
SIMULTÂNEA LAVAGEM E COMINUIÇÃO DO PRODUTO

Uma suspensão de partículas de PHB finamente divididas, obtida conforme exemplificado no exemplo 1.5, contendo de 4 a 20% de sólidos, é alimentada num reator agitado, de esgotamento de solvente (stripping), a uma taxa de 1000 kg/h, onde é admitido vapor por contato direto e água, até obter-se a remoção do álcool isoamílico dissolvido na água, juntamente com uma parcela da mesma, que irão compor a fase vapor efluente do sistema. Simultaneamente a evaporação do álcool isoamílico residual e continuamente a suspensão de partículas de PHB em água é submetida a um processo adicional de cisalhamento, através de um dispositivo semelhante ao descrito no exemplo 1.5. Completado o processo de esgotamento do solvente obtêm-se uma suspensão de PHB em água, finamente dividida, substancialmente pura e isenta de solvente numa concentração de 4 a 20 % de sólidos em suspensão. Esta suspensão é então resfriada e encaminhada para filtração, onde se obtêm uma torta de PHB com cerca de 50 a 80% de umidade, que é em seguida encaminhada para secagem.

REIVINDICAÇÕES

- 1- Processo para recuperação de polihidroxialcanoatos (PHAs) a partir de uma biomassa celular de bactérias obtida por fermentação, caracterizado pelo fato de
- 5 compreender as etapas de :
- a- diluir a biomassa celular em água e flocular a biomassa celular e decantar as células floculadas, de modo a obter um lodo de biomassa celular contendo flocos estáveis e com densidade aumentada em relação à da
- 10 célula;
- b- submeter o lodo de biomassa celular concentrado a operações de injeção de solvente de PHA líquido e de solvente de PHA na fase vapor no interior de um reator agitado, de modo a provocar, simultaneamente, o
- 15 aquecimento da biomassa celular a uma temperatura entre cerca de 90°C e a temperatura de ebulição do solvente à pressão substancialmente atmosférica, o rompimento da parede das células da biomassa celular e a dissolução do PHA contido nessa última e a formar: uma fase líquida
- 20 compreendendo uma suspensão de solvente de PHA enriquecido com o PHA dissolvido da biomassa celular, a água remanescente do lodo de biomassa celular e resíduos insolúveis de biomassa concentrado; uma fase sólida definida pela biomassa celular residual, com tamanho de
- 25 partícula uniforme; e uma fase vapor contendo vapores de água e de solvente de PHA;
- c- extrair a fase vapor do reator;
- d- submeter a fase líquida, formada no reator, a uma etapa de separação mecânica para recuperar o PHA
- 30 dissolvido no solvente de PHA, dos resíduos insolúveis de biomassa remanescente e em suspensão;
- e- resfriar rapidamente a solução de solvente de PHA enriquecida com PHA a uma temperatura suficiente para promover a precipitação de substancialmente todo o PHA
- 35 dissolvido no solvente;
- f- microfiltrar, a frio, a suspensão constituída pelo PHA precipitado no solvente que contém água e impurezas nele

- dissolvidas, de modo a separar um permeado, constituído por solvente praticamente isento de PHA e contendo água e impurezas solúveis carregadas para fora da biomassa celular pelo solvente durante a etapa de extração, e uma
- 5 pasta concentrada de PHA precipitado em suspensão numa solução de solvente e água, depurada com relação a quantidades de impurezas provenientes da biomassa;
- g- submeter à pasta de PHA a uma corrente de água e a um aquecimento suficiente para prover a lavagem dos grânulos
- 10 de PHA em suspensão e a evaporação de parte do solvente, de modo a se obter uma suspensão contendo solvente, água e aglomerados de grânulos de PHA dotados de alta porosidade, frágeis e facilmente cisalháveis;
- h- cisalhar mecanicamente os aglomerados de grânulos de
- 15 PHA, de modo a rompê-los rapidamente e a produzir partículas de PHA em suspensão finamente divididas, enquanto se processa o esgotamento do solvente da suspensão contendo o solvente residual, água e partículas finas de PHA, por aquecimento promovido pela injeção de
- 20 vapor d'água vivo na suspensão; e
- j- separar mecanicamente, as partículas finas de PHA em suspensão no meio aquoso do qual foi esgotado o solvente de PHA.
- 2- Processo, de acordo com a reivindicação 1,
- 25 caracterizado pelo fato de o solvente de PHA utilizado ser selecionado do grupo de solventes constituído por: acetato de butila, acetato de isobutila, acetato de amila, acetato de isoamila, álcool isobutílico, 1-butanol, 1-pentanol (álcool amílico), 2-metil-1-butanol,
- 30 3-metil-1-butanol (álcool isoamílico), 3-pentanol, 1-hexanol, ciclohexanol, propionato de propila, propionato de butila, propionato de isobutila, butirato de etila, isobutirato de isobutila, e misturas desses solventes.
- 35 3- Processo, de acordo com a reivindicação 2, caracterizado pelo fato de o solvente utilizado ser o álcool isoamílico, ou misturas isoméricas de álcool

isoamílico.

4- Processo, de acordo com a reivindicação 3, caracterizado pelo fato de o álcool isoamílico ser obtido do fracionamento do óleo fúsel, como subproduto da fermentação etanólica, sendo o óleo fúsel composto primordialmente pelo álcool isoamílico e seus isômeros, além de impurezas como: etanol, n-propanol, isobutanol, n-butanol e água.

5- Processo, de acordo com a reivindicação 4, caracterizado pelo fato do PHA ser selecionado do grupo constituído por poli-3-hidroxibutirato (PHB), poli(hidroxibutirato-co-hidroxivalerato) PHBV, e misturas desses polímeros e copolímeros.

6- Processo, de acordo com a reivindicação 5, caracterizado pelo fato do PHA ser produzido por fermentação bacteriana, utilizando microrganismos capazes de biosintetizar PHA, utilizando como matéria-prima principal açúcares extraídos da cana-de-açúcar, e onde o principal insumo energético utilizado para gerar a energia térmica e a energia elétrica requeridas pelo processo é o bagaço de cana-de-açúcar.

7- Processo, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato do PHA ser selecionado do grupo constituído por poli-3-hidroxibutirato (PHB), poli(hidroxibutirato-co-hidroxivalerato) PHBV, e misturas desses polímeros e copolímeros.

8- Processo, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de a biomassa celular processada ser previamente inativada termicamente.

9- Processo, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de a biomassa celular ser diluída em água, em uma proporção mássica de biomassa/água de cerca de 0,3:1,0 a cerca de 2,0:1,0.

10- Processo, de acordo com a reivindicação 9, caracterizado pelo fato de a etapa inicial de diluir a biomassa celular em água ser seguida das etapas de: coagulação das células fermentadas, por meio da

acidificação da biomassa celular diluída, para um pH de cerca de 1,5 a cerca de 4,5; adição de uma suspensão alcalina até ser alcançado um pH de cerca de 7 a cerca de 12; e adição de um polieletrólito, floculante aniônico, de modo a flocular as células de biomassa contendo PHA
5 acumulado.

11- Processo, de acordo com a reivindicação 10, caracterizado pelo fato de a acidificação da biomassa celular diluída ser obtida pela adição de um ácido
10 definido por pelo menos um dos ácidos sulfúrico e fosfórico.

12- Processo, de acordo com a reivindicação 10, caracterizado pelo fato da suspensão alcalina compreender hidróxido de cálcio.

13- Processo, de acordo com a reivindicação 10, caracterizado pelo fato de a acidificação ser conduzida de modo a prover um pH de cerca de 2,0 a cerca de 3,0, sendo a adição de suspensão alcalina feita de modo a ajustar o pH da suspensão de biomassa celular diluída
15 para cerca de 7 a cerca de 12.

14- Processo, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de o lodo de biomassa celular, obtido na etapa "a", ser submetido a uma lavagem em água e a uma concentração para a faixa de 10 a 40%,
20 preferivelmente de 25% a 35% em peso de biomassa celular diluída.

15- Processo, de acordo com a reivindicação 14, caracterizado pelo fato de a etapa de lavagem e concentração do lodo de biomassa celular ser realizada por sujeição simultânea dessa última a um fluxo de água e a efeitos de força centrífuga.
25

16- Processo, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de o solvente de PHA líquido, injetado no lodo de biomassa celular concentrado, ser aquecido.
30

17- Processo, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de a etapa de separação mecânica
35

do PHA, dissolvido no solvente de PHA, dos resíduos insolúveis de biomassa remanescente, compreender a filtração da suspensão definida pela dita fase líquida formada no reator.

5 18- Processo, de acordo com a reivindicação 17, caracterizado pelo fato de a filtração ser realizada por microfiltração por membrana.

10 19- Processo, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de a etapa de separação mecânica do PHA, dissolvido no solvente de PHA, dos resíduos insolúveis de biomassa remanescente, compreender a etapa de submeter à fase líquida formada no reator a uma separação por efeito de força centrífuga de baixa intensidade.

15 20- Processo, de acordo com a reivindicação 18, caracterizado pelo fato de a força centrífuga de baixa intensidade, utilizada na etapa de separação mecânica do PHA dissolvido no solvente de PHA dos resíduos insolúveis de biomassa remanescente, ser obtida por meio de
20 hidrociclones, produzindo uma suspensão com baixa concentração de resíduos de biomassa celular, e uma outra suspensão concentrada de resíduos de biomassa celular, sendo a suspensão alimentada aos hidrociclones e as duas suspensões geradas, constituídas por solução de solvente
25 de PHA enriquecida, contendo água residual nela dissolvida e resíduos de biomassa celular.

21- Processo, de acordo com a reivindicação 20, caracterizado pelo fato de a suspensão com baixa concentração de resíduos de biomassa celular que deixa os
30 hidrociclones ser rapidamente submetida à etapa de resfriamento.

22- Processo, de acordo com a reivindicação 21, caracterizado pelo fato de a suspensão concentrada de resíduos de biomassa celular que deixa os hidrociclones
35 ser submetida a uma etapa de filtração, para separação dos resíduos de biomassa celular, antes de ser submetida à etapa de resfriamento.

23- Processo, de acordo com a reivindicação 20, caracterizado pelo fato de a suspensão com baixa concentração de resíduos de biomassa celular que deixa os hidrociclones ser submetida a uma etapa de microfiltração por membrana, de modo a produzir uma solução de PHA dissolvido no solvente de PHA, isenta de resíduos insolúveis e conteúdo água e pequenas frações de cinzas e compostos coloridos dissolvidos no solvente de PHA, a qual é rapidamente submetida à etapa de resfriamento, e uma suspensão concentrada em resíduos de biomassa celular e contendo uma fração de PHA dissolvido no solvente de PHA, água, cinzas e compostos coloridos dissolvidos no solvente de PHA.

24- Processo, de acordo com a reivindicação 23, caracterizado pelo fato de a suspensão concentrada em resíduos de biomassa celular ser submetida a uma etapa de filtração, de modo a produzir uma torta contendo os resíduos insolúveis de biomassa celular e uma solução filtrada de PHA dissolvido em solvente e contendo água, cinzas e compostos coloridos dissolvidos no solvente de PHA, a ser rapidamente submetida à etapa de resfriamento.

25- Processo, de acordo com a reivindicação 23, caracterizado pelo fato de a solução de PHA dissolvido no solvente de PHA, e isenta de resíduos insolúveis, representar cerca de 60 a 90% em peso da suspensão em microfiltração, sendo que a suspensão concentrada em resíduos de biomassa celular representa cerca de 40 a 10% em peso de dita suspensão em microfiltração.

26- Processo, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de a etapa de microfiltrar, a frio, a suspensão constituída de PHA precipitado no solvente e contendo água e impurezas, ser realizada de modo a produzir uma suspensão de PHA com a concentração de PHA entre cerca de 3,5% a 8,0% em peso por peso.

27- Processo, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de a pasta de PHA ser lavada com uma corrente de água proveniente da condensação da fase

vapor extraída do reator durante a etapa de rompimento celular e de dissolução do PHA.

- 28- Processo, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de compreender ainda a etapa
- 5 final de secar as partículas finas de PHA separadas do meio aquoso do qual foi esgotado o solvente.
- 29- Processo, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato que todos os vapores de água e de solvente de PHA, gerados nas várias etapas do processo,
- 10 são condensados e separados em duas fases líquidas: uma fase líquida, rica em solvente que é enviada para uma coluna de retificação para recuperar o solvente de PHA e posteriormente retorná-lo ao processo; e uma outra fase líquida pobre em solvente que é recirculada no processo
- 15 para possibilitar a recuperação do solvente de PHA nela contido.
- 30- PHB, caracterizado pelo fato de ser produzido de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores.

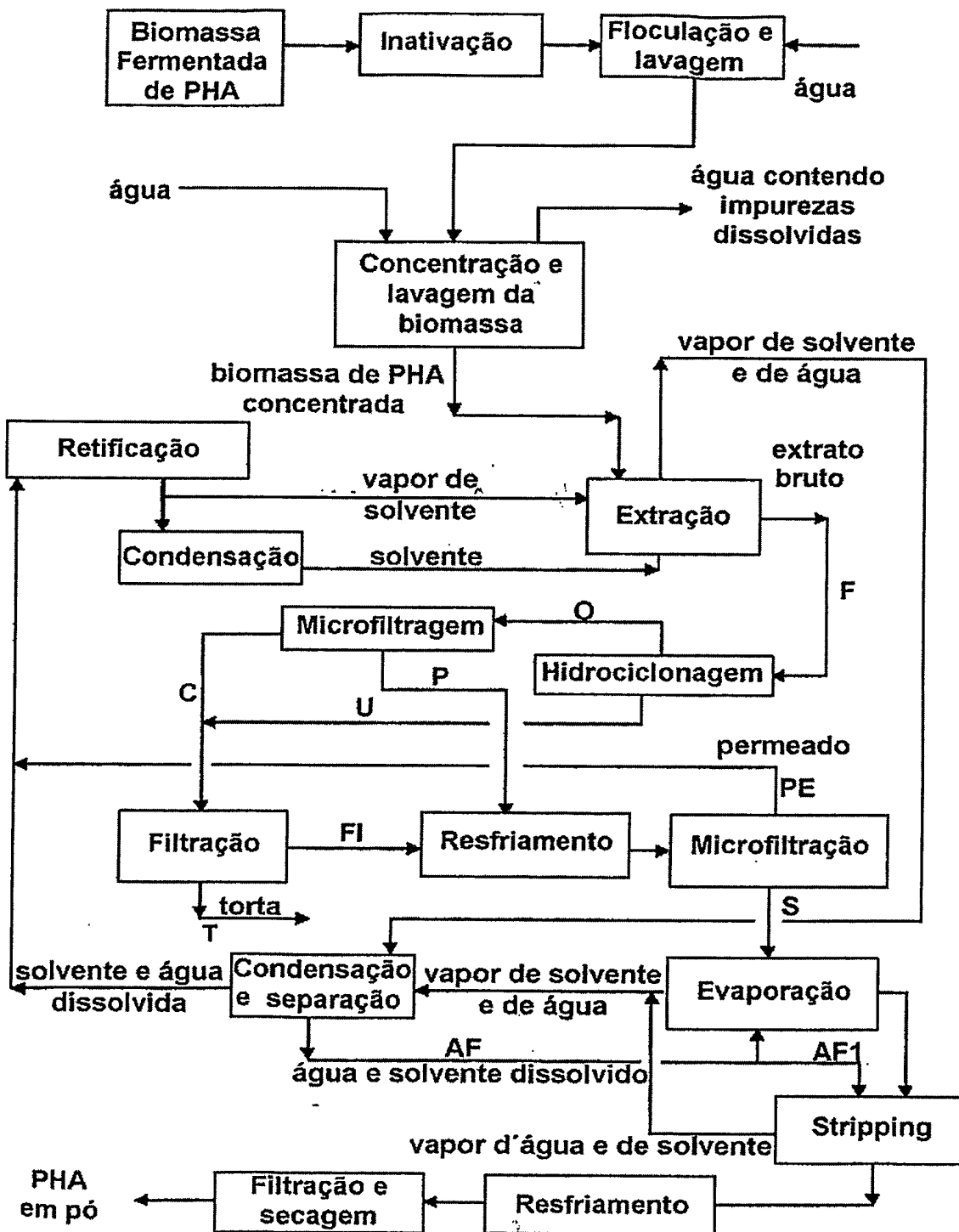


FIG. 1

RESUMO

"PROCESSO PARA RECUPERAÇÃO DE POLIHIDROXIALCANOATOS (PHAs) DE BIOMASSA CELULAR", a partir de uma biomassa celular de bactérias obtida por fermentação, compreendendo as etapas de : - diluir em água e flocular a biomassa celular e decantar as células floculadas; tratar a biomassa com um solvente, dissolvendo o PHA em uma fase líquida compreendendo o solvente de PHA e a água remanescente do tratamento da biomassa; - separar, recuperar o PHA dissolvido no solvente de PHA dos resíduos sólidos insolúveis em suspensão; -resfriar rapidamente a solução de solvente de PHA para promover a precipitação do PHA dissolvido no solvente; - concentrar, a frio, a suspensão constituída pelo PHA precipitado, de modo a separar um permeado, constituído por solvente praticamente isento de PHA e contendo água e impurezas solúveis, e uma pasta concentrada de PHA precipitado em suspensão numa solução de solvente e água, depurada com relação a quantidades de impurezas provenientes da biomassa; - submeter à pasta de PHA a uma lavagem em de água e a um aquecimento, de modo a se obter uma suspensão contendo solvente, água e aglomerados de grânulos de PHA dotados de alta porosidade, frágeis e facilmente cisalháveis; - cisalhar fina e mecanicamente os aglomerados de grânulos de PHA, e esgotar o solvente residual, água e partículas finas de PHA, por aquecimento promovido pela injeção de vapor d'água vivo na suspensão; e - separar, mecanicamente, as partículas finas de PHA em suspensão no meio aquoso do qual foi esgotado o solvente de PHA.

Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/BR04/000237

International filing date: 25 November 2004 (25.11.2004)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: BR
Number: PI 0306230-9
Filing date: 28 November 2003 (28.11.2003)

Date of receipt at the International Bureau: 21 February 2005 (21.02.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☒ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.